Weitere Beiträge zur Theorie der Milch- und Kaseingerinnung durch Lab.

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Gerhard Wernken,
approb. Arzt
aus Ermke (Oldenburg).

München.
Druck von R. Oldenbourg.
1908.

Weitere Beiträge zur Theorie der Milch- und Kaseingerinnung durch Lab.

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Gerhard Wernken,
approb. Arzt
aus Ermke (Oldenburg).

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

München.
Druck von R. Oldenbourg.
1908.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent: Herr Prof. Dr. von Frey.

Die ersten eingehenderen Untersuchungen über das Wesen der Milchgerinnung wurden von Olof Hammarsten[1]) angestellt. Die beiden Gerinnungsarten, die durch Säurung der Milch und die durch Lab hervorgerufene, trennte er scharf. Er wies nach, daſs es sich bei der Säuregerinnung einfach um die Ausfällung eines unlöslichen sauren Eiweiſskörpers, des Kaseins, aus seiner salzartigen Bindung handelt, bei der Labgerinnung dagegen um einen fermentativen Vorgang.

Diese fermentative Wirkung faſste er auf als eine hydrolytische Spaltung des groſsen Kaseinmoleküls in das in seiner Kalkverbindung unlösliche Parakasein einerseits und in einen peptonähnlichen, phosphorfreien, N- und C-armen Eiweiſskörper anderseits.

Auf Grund seiner Untersuchungen erhob Duclaux[2]) zuerst gegen diese Lehre Einspruch. Er filtrierte dieselbe Milch vor und nach dem Eintreten der Labwirkung durch Chamberlandfilter und bestimmte dann den N-Gehalt des Filtrates. Einen Unterschied im N-Gehalt konnte er so nicht nachweisen. Dieses hätte doch der Fall sein müssen, wenn in der geronnenen Milch ein leicht filtrierbarer Eiweiſskörper vom Charakter des Hammarstenschen Molkeneiweiſses enthalten gewesen wäre.

---

1) Hammarsten, Upsala Läkeforenings Förhandlingar 8, 1873.

2) Duclaux, Anal. de l'Institut agronom.

Nicht so sehr diese Beobachtung als vielmehr der Befund Hillmanns[1]), wonach die Mengenverhältnisse, in denen bei der Gerinnung Parakasein und Molkeneiweifs auftreten, ganz inkonstant sind, veranlafsten Hammarsten, seine Ansicht über die Labwirkung zu modifizieren. Hillmann fand nämlich bald 92 % bald 96—97 % des Kaseins als Parakasein wieder.

Unter Hinweis auf diesen Befund erklärte Hammarsten dann[2]), dafs er die hydrolitische Spaltung des Kaseins bei der Labgerinnnng nicht mehr als sicher bewiesen ansehe. Er gab die Möglichkeit zu, dafs es sich bei der Gerinnung »nicht um eine hydrolytische Spaltung, sondern um eine intramolekulare Umwandlung oder um irgend eine andere noch unbekannte Umwandlung des Kaseins handele«. Dieser Auffassung schlossen sich dann mehrere Forscher an.

Loevenhart[3]) deutet die Resultate seiner Untersuchung über das chemische und physikalische Verhalten des Parakaseins sogar dahin, dafs Parakasein ein höher molekularer Körper sei als Kasein.

Andererseits fehlt es auch nicht an Autoren, die der alten Auffassung Hammarstens das Wort reden. In der letzten Zeit suchte Laqueur[4]) die ursprüngliche Gerinnungstheorie Hammarstens durch eine Reihe von Untersuchungen über das chemische und physikalische Verhalten der Kasein- und Parakaseinlösungen zu stützen.

Er beobachtete die Leitfähigkeit und die innere Reibung von Kaseinlösungen sowie ihre Änderung nach Labeinwirkung. Während die Bestimmung der Leitfähigkeit zu keinem ganz sicheren Resultate führte, ergaben die Messungen der Viskosität eine Abnahme derselben bis zu 20 % bei dem Übergange des Kaseins in Parakasein.

Laqueur untersuchte ferner die Fällungsgrenzen gegenüber Ammonsulfat bei Kasein- und Parakaseinlösungen. Die Fällungsgrenzen waren verschieden.

---

1) Hillmann, Dissert. Leipzig 1895.

2) Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 28 S. 114.

3) Loevenhart, Über die Gerinnung der Milch. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 41 S. 177.

4) Laqueur, Dissert. Breslau 1905.

Auf Grund dieser Befunde kommt Laqueur zu dem Schlusse, dafs es sich bei der Milchgerinnung durch Lab um eine Spaltung des Kaseinmoleküls handele. Aus dem grofsen Molekül des Kaseins sollen kleinere abgespalten werden, denn der Grad der inneren Reibung von Lösungen sei unter anderem besonders von der Gröfse der gelösten Moleküle abhängig.[1])

Die Spaltung der Eiweifskörper, zumal die hydrolytische, äufsert sich aber nicht nur in der Abnahme der Viskosität ihrer Lösung, in der Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit, in Änderung der Aussalzbarkeit, sondern, wie Gürber und seine Schüler Krengel, Daniels, Hoffa, Ring gezeigt haben, vornehmlich auch in der Zunahme des Salzsäure- und Alkalibindungsvermögens und in Änderungen der spezifischen Drehung. Das Drehungsvermögen ändert sich insofern, als bei der peptischen Verdauung eine allmähliche Zunahme der optischen Drehung, bei der tryptischen Verdauung hingegen eine Abnahme erfolgt.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Gürber untersuchte ich Milch und Kaseinlösung vor und nach der Labwirkung auf das Salzsäure- und Alkalibindungsvermögen sowie auf die Änderung der optischen Aktivität.

I. Das Säure- und Alkalibindungsvermögen.

a) Milch.

Zur Untersuchung wurde immer frische Milch verwandt. Zu 100 ccm wurden 10 ccm einer 2proz. Kaliumoxalatlösung gegeben, um die Gerinnung hintanzuhalten. Die Milch wurde eine halbe bis dreiviertel Stunde zentrifugiert und das Fett sorgfältig abgehoben. Diese Milch wurde zu den Versuchen benutzt.

Das Salzsäurebindungsvermögen wurde durch Titration mit n/10 HCl bis zum Auftreten der Günzburgschen Reaktion folgendermafsen ermittelt. Auf einen Porzellandeckel wurden einige Tropfen Günzburgs Reagens gebracht, über einer Flamme vorsichtig erwärmt, so dafs sich das Reagens in gleichmäfsiger Schicht verteilte und eintrocknete. Nach Zusatz von je 0,5 ccm n/10 HCl und guter Durchmischung wurde jedesmal 1 Tropfen auf den Porzellandeckel gebracht. Nach Zusatz von einigen Kubikzentimetern liefs ich im Thermostaten, der auf 110° C eingestellt war, eintrocknen. So erhielt ich zunächst einen Grenzwert. In einer zweiten Probe wurde nun

---

1) Laqueur u. Sackur, Über die Säureeigenschaften und das Molekulargewicht etc. Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 3.

n/10 HCl sofort bis zu dem Werte, der dem positiven Ausfall der Reaktion vorausging, zugesetzt. Die dazwischen liegenden 0,5 ccm wurden dann genauer titriert, indem nach Zusatz von je 0,1 ccm ein Tropfen auf den Porzellandeckel gebracht wurde.

Das Alkalibindungsvermögen wurde in der Milch nach Labeinwirkung bei gleicher Versuchsanordnung bestimmt. Tftriert wurde mit n/10 NaOH. Als Indikator diente Phenolphthalein.

1. Es ergab sich, dafs 5 ccm Milch 3,5 ccm n/10 HCl binden. Zwei Proben Milch wurden mit gekochtem und ungekochtem Lab versetzt und bei 38° C 20 Minuten in den Thermostaten gestellt.

Das Salzsäurebindungsvermögen betrug:

Probe I 5 ccm Milch + 1 Tropfen Lab ungekocht = 3,9 ccm n/10 HCl
» II 5 » » + 1 » » gekocht = 3,8 ccm n/10 HCl

Alkalibindung der unveränderten Milch = 0,6 ccm n/10 NaOH
Probe I 5 ccm Milch + 1 Tropfen Lab ungek. = 0,7 ccm n/10 NaOH
» II 5 » » + 1 » » gek. = 0,6 ccm n/10 NaOH

2. Ein zweiter Versuch mit der gleichen Milch ergab:

5 ccm Milch unverändert = 3,5 ccm n/10 HCl.

Nachdem auf 5 ccm Milch 1 Tropfen Lab 30 Minuten bei 40° im Thermostaten eingewirkt hatte, betrug das Salzsäurebindungsvermögen in

Probe I 5 ccm Milch + 1 Tropf. Lab ungekocht = 3,9 ccm n/10 HCl
» II » » + 1 » » gekocht = 3,8 ccm n/10 HCl.

Wir haben hier eine geringe Zunahme des Salzsäurebindungsvermögens, und zwar bei der mit ungekochtem Lab versetzten um 0,4 n/10 HCl. In der Probe mit gekochtem Lab beträgt aber die Zunahme auch 0,3 ccm n/10 HCl.

Die Zunahme des Säurebindungsvermögens der Milch scheint daher hauptsächlich durch das Säurebindungsvermögen der Lablösung bedingt zu sein.

Um hierüber Aufschlufs zu bekommen, habe ich in den folgenden Versuchen immer das Säurebindungsvermögen der Lablösung bestimmt.

3. 5 ccm frischer Milch binden 4,5 ccm n/10 HCl, 1 ccm der verwandten Lablösung 0,4 ccm n/10 HCl.

Nach einer Digestion von 30 Minuten bei 38° im Wasserbade betrug die Salzsäurebindung in

5 ccm Milch + 1 ccm Lab ungekocht 4,9 ccm n/10 HCl
5 » » + 1 » » gekocht 4,8 ccm n/10 HCl

Hier fällt die Zunahme ganz auf Rechnung des Labzusatzes.

4. Noch ein Versuch sei angeführt, wo ebenfalls keine Erhöhung des Salzsäurebindungsvermögens auftritt.

5 ccm frische Milch binden 4,9 ccm n/10 HCl
5 ccm Milch + 1 ccm Lab ungekocht = 5,3 ccm n/10 HCl
5 » » + 1 » » gekocht = 5,5 ccm n/10 HCl.

Beide Proben standen 45 Minuten bei 38° im Wasserbade.

Eine Zunahme des Säurebindungsvermögens, die für eine der hydrolytischen Eiweifsspaltung analoge Spaltung des Kaseins bei der Milchgerinnung spräche, zeigen die obigen Versuche nicht. Dagegen läfst die Alkalibindung eine geringe Zunahme erkennen, die vielleicht im Sinne Laqueurs gedeutet werden könnte. Bemerkt sei noch, dafs durch Kontrollproben mit nachträglichem Kalkzusatz die Überführung des Kaseins in Parakasein durch Lab festgestellt wurde.

b) Kasein.

Es wurden dann Kaseinlösungen hinsichtlich ihres Salzsäure- und Alkalibindungsvermögens und der Zunahme desselben nach Labeinwirkung untersucht.

Das Kasein, welches ich zu den Versuchen fast ausschliefslich benutzte, war aus der chemischen Fabrik Rhenania bezogen. Das Basenbindungsvermögen stimmte mit den Werten überein, die Laqueur für das von ihm benutzte Präparat angegeben hat. Gelöst wurde das Kasein in n/10 NaOH. Um einen zu grofsen Alkalizusatz zu verhüten, wurden dem im Wasser aufgeschwemmten Kasein einige Tropfen Phenolphthalein zugesetzt. Beim Zusetzen der Natronlauge wurde sorgfältig darauf geachtet, dafs auch nicht einen Augenblick eine alkalische Reaktion eintrat. Die Lösungen waren meistens 3prozentige, wie sie auch Laqueur zu seinen Versuchen benutzt hat.

Als Lab wurde teils ein zur Hälfte mit Wasser verdünntes Glyzerinextrakt aus getrocknetem Kalbsmagen, teils ein Labpulverextrakt benutzt. Beide erwiesen sich noch in 10—15facher Verdünnung sehr wirksam.

Versuche über Salzsäurebindung.

1. 2 ccm einer 3proz. Kaseinlösung (neutrale Reaktion auf Lackmus) binden 0,9 ccm n/10 HCl bis zum ersten Auftreten der Günzburgschen Reaktion.

Zu 2 ccm Kaseinlösung wurden dann 5 Tropfen gekochtes und nichtgekochtes Lab gegeben. Eine Stunde blieben beide Proben im Wasserbade bei 38° der Labwirkuug ausgesetzt.

Die Titration ergab folgende Werte:

Probe I. 5 ccm Kaseinlösung + 5 Tropfen Labmagenextrakt ungekocht = 1.0 ccm n/10 HCl

Probe II. 5 ccm Kaseinlösung + 5 Tropfen Labmagenextrakt gekocht = 0,9 ccm n/10 HCl.

5 Tropfen der Lablösung binden:

0,1 ccm n/10 HCl, wodurch die Zunahme von 0,1 ccm n/10 HCl ihre Erklärung findet.

2. Ein zweiter Versuch ergab ebenfalls keine Zunahme

5 ccm einer 3proz. Kaseinlösung binden 1,6 ccm n/10 HCl. Nach einer Digestion von 30 Minuten im Wasserbade betrug das Salzsäurebindungsvermögen in

Probe I. 5 ccm Kaseinlösung + 1 ccm Lablösung ungekocht 1,9 ccm n/10 HCl

Probe II. 5 ccm Kaseinlösung + 1 ccm Lablösung gekocht 1,8 ccm n/10 HCl.

1 ccm Lablösung bindet 0,3 ccm n/10 HCl. Auch hier wird die Zunahme durch das Salzsäurebindungsvermögen von 1 ccm Lablösung erklärt.

3. Weitere Versuche ergaben:

5 ccm Kaseinlösung (neutrale Reaktion auf Lackmus) binden 1,7 ccm HCl

Nach einer Digestion von 40 Minuten im Thermostaten beträgt das Salzsäurebindungsvermögen:

5 ccm Kaseinlösung + 1 Tropfen Lablösung gekocht = 1,9 ccm n/10 HCl

5 ccm Kaseinlösung + 1 Tropfen Lablösung ungek. = 1,9 ccm HCl.

4. 10 ccm Kaseinlösung binden 5,7 ccm n/10 HCl.

Nach einer einstündigen Digestion bei 38° im Thermostaten betrug das Salzsäurebindungsvermögen bei

I. 10 ccm Kaseinlösung + 1 Tropfen Lablösung gekocht = 5,8 ccm n/10 HCl

II. 10 ccm Kaseinlösung + 1 Tropfen Lablösung ungekocht = 5,8 ccm n/10 HCl

Die Alkalibindung nahm nach Labeinwirkung nicht zu. Bei einer 4 proz. Kaseinlösung (neutraler Reaktion auf Lackmus) betrug das Alkalibindungsvermögen 0,7 ccm n/10 NaOH.

Nach erfolgter Labung, die hier wie auch in den vorhergehenden Versuchen durch Zusatz einiger Tropfen einer 0,4 proz. $CaCl_2$ - Lösung nachgewiesen wurde, war das Alkalibindungsvermögen unverändert:

5 ccm Kaseinlösung + Lablösung ungek. = 0,7 ccm n/10 NaOH
5 » » + » gek. = 0,7 » » »

5. Je 20 ccm einer 3 proz. neutralen Kaseinlösung wurden 1 Stunde im Thermostaten mit 1 ccm verdünnter Lablösung (gekocht und ungekocht) digeriert bei 38° C. Nach 1 Stunde wurden je 5 ccm entnommen und das Salzsäurebindungs- und Alkalibindungsvermögen bestimmt.

In den 5 ccm ursprünglichen Kaseinlösung war nach Zusatz von 4,5 ccm n/10 HCl die Günzburgsche Reaktion positiv.

Nach der Digestion betrug das Salzsäurebindungsvermögen:

5 ccm Kaseinlösung + 1 ccm Lab gekocht = 4,5 ccm n/10 HCl
5 » » + 1 » » ungek. = 4,6 » » »

Das Alkalibindungsvermögen der 5 ccm der ursprünglichen Kaseinlösung betrug 0,3 ccm n/10 NaOH. Nach der Digestion:

5 ccm Kaseinlösung + 1 ccm Lab gekocht = 0,3 ccm n/10 NaOH
5 » » + 1 » » ungek. = 0,3 » » »

6. Der Versuch über das Alkalibindungsvermögen wurde wiederholt unter folgenden Bedingungen:

5 ccm einer neutralen 3 proz. Kaseinlösung wurden 20 Min. bei 37,5° C mit Lab im Wasserbade digeriert und dann das Alkalibindungsvermögen bestimmt.

Das Alkalibindungsvermögen der ursprünglichen Kaseinlösung ohne Zusatz . . . . = 0,2 ccm n/10 NaOH

Nach der Digestion:

5 ccm Kaseinlösung + 4 Tropf. Lablösung = 0,3 » » »
5 » » + 2 » » = 0,3 » » »

Ein bestimmtes Resultat läfst sich aus diesen Versuchen nicht ableiten. Obgleich die Gerinnung eingetreten war, zeigte das Salzsäure- wie auch das Alkalibindungsvermögen kaum eine Zunahme. Zugunsten einer hydrolytischen Spaltung sprechen diese Befunde an der Milch und den Kaseinlösungen nicht.

II. Optisches Drehungsvermögen der Kaseinlösungen.

Da nach den Untersuchungen von Gürber das Drehungsvermögen der Eiweifslösungen nach ihrer hydrolytischen Spaltung eine Änderung erfährt, lag der Gedanke nahe, auch Kaseinlösungen auf ihre eventuelle Drehungsänderung zu untersuchen. Eine grofse Schwierigkeit für die Untersuchung lag darin, dafs die Kaseinlösungen nicht völlig klar waren. Es wurden daher die Lösungen durch Kieselgur filtriert. Sie wurden etwas klarer, doch ganz klärten sie sich nicht auf.

Es seien im folgenden das Drehungsvermögen der Kaseinlösungen und die Änderung nach Labeinwirkung mitgeteilt:

1. Drehung der ursprünglichen Kaseinlösung 2° 30′.

10 ccm filtrierte Kaseinlösung wurden 1 Stunde bei 39° im Wasserbade mit 5 Tropfen Lablösung digeriert, und dann wurde das Drehungsvermögen wieder bestimmt, nachdem die Proben auf Zimmertemperatur abgekühlt waren.

Drehungsvermögen der Kaseinlösung + 5 Tropfen Lab = 2° 27′ (Mittel aus 18 Ablesungen).

2. Drehungsvermögen einer 3proz. Kaseinlösung 2° 9′ (12 Ablesungen). 10 ccm der Kaseinlösung wurden mit 4 Tropfen Lablösung $1^1/_4$ Stunden digeriert. Es betrug dann das Drehungsvermögen 2° 7′ (Mittel aus 10 Ablesungen).

3. Drehungsvermögen einer 3proz. Kaseinlösung 2° 12′ (18 Ablesungen). Nachdem 5 ccm der Lösung mit 3 Tropfen Lab 45 Min. digeriert, betrug das Drehungsvermögen 2° 8′ (14 Ablesungen).

4. Es wurde dann noch zugleich mit der mit Lab angesetzten Probe eine Kontrollprobe in das Wasserbad gesetzt. Nach

einer Digestion von 45 Min. betrug das Dehnungsvermögen bei

1. 5 ccm Kaseinlösung + 2 Tropfen Lab = 2° 2′ } 14 Ab-
2. 5 » » Kontrollprobe = 2° 2′ } lesungen.

Teilweise haben wir hier eine geringe Abnahme des Drehungsvermögens, doch ist die Erscheinung nicht so konstant, dafs sie zu irgend einer Schlufsfolgerung berechtigte.

III. Innere Reibung.

Da das Verhalten des Salzsäurebindungs- und des Alkalibindungsvermögens sowie auch des Drehungsvermögens der Kaseinlösungen nach Übergang in Parakasein konstant gegen eine hydrolytische Spaltung des Kaseins im Sinne Laqueurs spricht, schien es angezeigt, auch die behaupteten Viskositätsänderungen von Milch und Kaseinlösungen noch einer Nachprüfung zu unterziehen.

Die innere Reibung wurde mit dem Ostwaldschen Viskosimeter durch Messung der Ausflufsgeschwindigkeit bestimmt. Der Apparat und sein Gebrauch ist näher beschrieben und abgebildet in Ostwald-Luthers »Chemische Untersuchungsmethoden«. Die Milch oder Kaseinlösung fliefst unter eigenem Druck durch die Kapillare. Von den sorgfältigst filtrierten und auf die verlangte Temperatur vorgewärmten Flüssigkeiten wurden jeweils 2 ccm in den weiteren Schenkel des Viskosimeters gebracht. Die Versuche, durch Ansaugen am Kapillarenschenkel die Flüssigkeit hoch zu bringen, mufsten aufgegeben werden, da der Flüssigkeitsfaden in der Kapillare über der Kugel regelmäfsig Luftblasen enthielt. Besser gelang das Hochbringen der Flüssigkeiten durch Druck vom weiten Schenkel aus. War sie bis über die obere Grenzmarke gestiegen, wurde sie freigelassen und flofs aus, bis sie über die untere Marke trat. Diese Ausflufszeit wurde mit dem Chronometer beobachtet. Die Beobachtung geschah gegen eine von hinten erleuchtete Mattscheibe. Der Viskosimeter befand sich in einem Ostwaldschen Wasserbade. Die Temperatur des Wassers wurde auf 37° C gehalten. Schwankungen von $^1/_{10}{}^0$ C kamen vor. Eine gleichmäfsige Durchwärmung des Wassers garantierte eine kleine Wasserschraube, die durch einen Elektromotor in Bewegung gesetzt wurde. Nach dem Gebrauch wurde der Viskosimeter jedesmal aufs sorgfältigste mit Wasser, Alkohol und Äther gereinigt und durch Durchsaugen von durch Watte filtrierter Luft getrocknet.

Die beobachteten Ausflufszeiten finden sich bei den einzelnen Versuchen in Tabellen nebeneinander gestellt. Aufserdem habe ich versucht, die Änderungen der Viskosität graphisch zur Anschauung zu bringen, indem ich die Ausflufszeiten in Sekunden (5 mm = 1″) auf Ordinaten und die Zahl der Beobachtungen,

fast identisch mit der Zeit, während der die Milch oder die Kaseinlösungen der Labwirkung unterstand, auf die Abszisse aufgetragen habe. Es folgten sich im allgemeinen die Beobachtungen der Ausflufszeiten derart unmittelbar, dafs, sobald das Ende des Flüssigkeitsfadens die untere Marke passiert hatte, die Flüssigkeit von neuem hochgetrieben wurde. Unterbrechungen in der Beobachtung wurden immer ihrer Dauer nach aufnotiert; sie sind in den Kurven durch gerade Linien mit Zeitvermerk aufgeführt.

Die Viskositätsänderung der Milch.

Die Viskositätsänderung der Milch bei der Labung wurde von Gutzeit[1]), dann von Reichel und Spiro[2]) untersucht und zwar ohne kalkbindende Stoffe. Gutzeit fand eine Zunahme der inneren Reibung, die um so eher eintrat, je stärker die Lablösungen waren. Reichel und Spiro fanden, dafs die Reibung zuerst nicht zunimmt, ungefähr nach der Hälfte der Gerinnungszeit aber deutlich und immer rascher ansteigt. Mangelhafte Durchmischung und Auftreten einzelner Flocken vor der Fällung ist wohl die Ursache dieser Viskositätsänderung. Bei der Oxalatmilch habe ich auch in den Fällen, wo Lab erst im Viskosimeter zugesetzt wurde und die Labung sicher erfolgt war, eine Zunahme der Reibung nicht beobachtet. Die Umwandlung des Kaseins in Parakasein wurde durch Zusatz einiger Tropfen einer 0,4 proz. $CaCl_2$-Lösung nachgewiesen. Auch wurde zugleich mit den Oxalatmilchproben eine Kontrollprobe unveränderter Milch + Lab angesetzt, die in der betreffenden Zeit geronnen war.

a) Versuche mit Milch.

100 ccm Milch wurden mit 10 ccm einer 2 proz. Kaliumoxalatlösung versetzt und zentrifugiert. Von der zentrifugierten Milch brachte ich je 20 ccm

Probe 1 mit 10 Tropfen Labpulverextrakt ungekocht
» 2 » 10 » » gekocht,

zusammen für 25 Minuten in das Wasserbad von 37° C. Nachdem in dem einen Teil der Probe mit ungekochtem Lab durch Zusatz von $CaCl_2$-Lösung die Umwandlung des Kaseins in Parakasein konstatiert war, wurden 2 ccm

1) Gutzeit, Milchzeitung 24.

2) Reichel u. Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Path. Bd. 8 S. 17.

zuerst von dieser Probe in den Viskosimeter gebracht und mit siebenfacher Wiederholung die Ausflufszeit bestimmt. Dann wurde dasselbe auch mit der Probe mit gekochtem Lab gemacht. In den folgenden Tabellen sind die Ausflufszeiten und deren Änderung während der Beobachtung enthalten und in der Kurve 1 graphisch dargestellt.

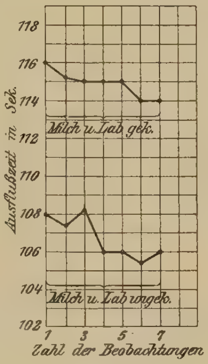
Versuch 1.

Milch + Lab ungekocht. Beobachtung 20′.

1′ 48″ 1′ 47²/₅″ 1′ 48¹/₅″ 1′ 46″ 1′ 46″ 1′ 46″ 1′ 45²/₅″ 1′ 46″

Milch + Lab gekocht. Beobachtung 20′.

1′ 56″ 1′ 55¹/₅″ 1′ 55″ 1′ 55″ 1′ 54″ 1′ 54″ 1′ 54″.

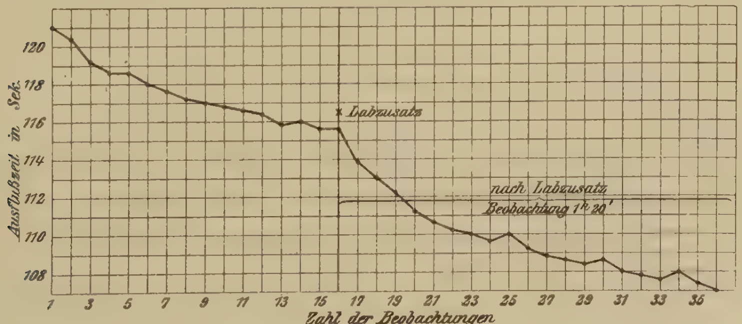


Kurve 1.

Die Differenz in der Ausflufszeit zwischen der Milch mit ungekochtem und gekochtem Lab beträgt 7 %. Der Unterschied ist geringfügig. Dafs noch eine geringe Abnahme im Viskosimeter erfolgt, erklärt sich wohl daraus, dafs bei der Entnahme aus dem Thermostaten und beim Einbringen in den Viskosimeter eine Abkühlung erfolgte. Um dieses zu verhindern, wurden 2 ccm der mit Kaliumoxalat versetzten Milch ohne Labzusatz in die Kapillare gebracht und die Ausflufszeiten so lange beobachtet, bis sie sich konstant erwiesen, dann erst wurde Lab zugegeben.

Es seien nun mehrere derartige Versuche angeführt, deren Ergebnisse in den folgenden Tabellen enthalten und in den Kurven 2, 3 und 4 graphisch dargestellt sind.

Versuch 2.



Kurve 2

Milch ohne Lab. Beobachtung 4 h — 4 h 40′ ununterbrochen.

$2'\,1''$ $2'\,{}^{2}/_{5}''$ $1'\,59^{1}/_{5}''$ $1'\,58^{4}/_{5}''$ $1'\,58^{3}/_{5}''$ $1'\,58''$ $1'\,57^{3}/_{5}''$ $1'\,57^{1}/_{5}''$ $1'\,57''$
$1'\,56^{4}/_{5}''$ $1'\,56^{3}/_{5}''$ $1'\,56^{2}/_{5}''$ $1'\,55^{4}/_{5}''$ $1'\,56''$ $1'\,55^{3}/_{5}''$ $1'\,55^{3}/_{5}''$

Differenz der Ausflufszeiten: $2'\,1'' - 1'\,55^{3}/_{5}'' = 4\,\%$.

Es wurde jetzt im Viskosimeter 1 Tropfen Labextrakt zersetzt und sofort die Reibungsänderung weiter beobachtet.

Beobachtung 50′ ununterbrochen (s. Kurve 2).

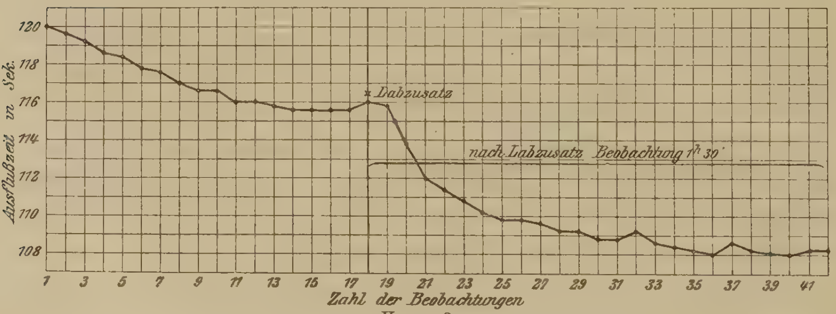
$1'\,53^{4}/_{5}''$ $1'\,53''$ $1'\,52^{1}/_{5}''$ $1'\,51^{1}/_{5}''$ $1'\,50^{3}/_{5}''$ $1'\,50^{1}/_{5}''$ $1'\,50''$ $1'\,49^{1}/_{5}''$ $1'\,50''$
$1'\,49^{1}/_{5}''$ $1'\,48^{4}/_{5}''$ $1'\,48^{3}/_{5}''$ $1'\,48^{2}/_{5}''$ $1'\,48^{3}/_{5}''$ $1'\,48''$ $1'\,47^{4}/_{5}''$ $1'\,47^{3}/_{5}''$ $1'\,48''$
$1'\,47^{2}/_{5}''$ $1'\,47''$

Differenz der Ausflufszeiten: $1'\,55^{3}/_{5}'' - 1'\,47'' = 7{,}5\,\%$.

Die erfolgte Gerinnung wurde durch Zusatz einiger Tropfen einer 0,4 proz. $CaCl_2$-Lösung nachgewiesen.

Ein Kontrollversuch ergab die folgenden Resultate:

Versuch 3.



Kurve 3.

2 ccm Milch ohne Lab. Beobachtung 45′.

$2'$ $1'\,59^{3}/_{5}''$ $1'\,59^{1}/_{5}''$ $1'\,58^{3}/_{5}''$ $1'\,58^{2}/_{5}''$ $1'\,57^{4}/_{5}''$ $1'\,57^{3}/_{5}''$ $1'\,57''$ $1'\,56^{3}/_{5}''$
$1'\,56^{3}/_{5}''$ $1'\,56''$ $1'\,56''$ $1'\,55^{4}/_{5}''$ $1'\,55^{3}/_{5}''$ $1'\,55^{3}/_{5}''$ $1'\,55^{3}/_{5}''$ $1'\,56''$

Differenz der Ausflufszeiten: $2' - 1'\,55^{3}/_{5}'' = 4\,\%$.

Nach Labzusatz 1 Tropfen.

Beobachtung von 2 h 50—3 h 30.

$1'\,55^{4}/_{5}''$ $1'\,53^{4}/_{5}''$ $1'\,52''$ $1'\,51^{2}/_{5}''$ $1'\,50^{4}/_{5}''$ $1'\,50^{1}/_{5}''$ $1'\,49^{4}/_{5}''$ $1'\,49^{4}/_{5}''$
$1'\,49^{3}/_{5}''$ $1'\,49^{1}/_{5}''$ $1'\,49^{1}/_{5}''$ $1'\,48^{4}/_{5}''$ $1'\,48^{4}/_{5}''$ $1'\,49^{1}/_{5}''$ $1'\,48^{3}/_{5}''$ $1'\,48^{2}/_{5}''$

Differenz zwischen $1'\,55^{4}/_{5}''$ und $1'\,48^{3}/_{5}'' = 6{,}9\,\%$.

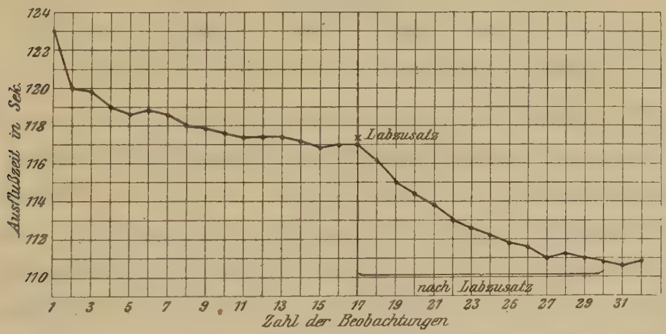
Von 3 h 40′ — 3 h 50′
$1'\,48^{1}/_{5}''$ $1'\,48''$ $1'\,48^{3}/_{5}''$ $1'\,48^{1}/_{5}''$

4 h — 4 h 20′ (s. Kurve 3)
$1'\,48''$ $1'\,48''$ $1'\,48^{1}/_{5}''$ $1'\,48^{1}/_{5}''$ $1'\,48^{1}/_{5}''$

Die Resultate zeigen eine gute Übereinstimmung. Die Änderung der Ausflufszeit ist unbedeutend. S. Kurven. In 40 Minuten verringert sich die Ausflufszeit in dem ersten Versuche um 4 %, in dem zweiten um 3,6 %. Nach einem Tropfen Labzusatz haben wir in dem ersten Versuche eine Abnahme der Ausflufszeit um 7,5 % in 45″, in dem zweiten eine Abnahme um 6,3 %, die sich nach 1 h 30′ nicht geändert hat. Reichel und Spiro (a. a. O.) konnten bei ihren Versuchen eine Änderung der Viskosität der Milch nicht beobachten. Oxalatmilch hatte nach 120″ eine relative Viskosität von 20″, nach 1350″ eine Viskosität von 19″. Bei den Versuchen mit unveränderter Milch war diese in der Zeit geronnen.

Solche Unterschiede in den Ausflufszeiten, wie sie in den vorstehenden Versuchen beobachtet wurden, zeigten sich in den folgenden Versuchen während der gleichen Zeit nicht mehr. Die Verschiedenheit der Milch hat jedenfalls auch auf die innere Reibung einen Einflufs.

Versuch 4.



Kurve 4.

Milch ohne Lab im Viskosimeter 40′ beobachtet.

2′ 3″ 2′ 1′ 59⁴/₅″ 1′ 59″ 1′ 58³/₅″ 1′ 58⁴/₅″ 1′ 58³/₅″ 1′ 58″ 1′ 57⁴/₅″ 1′ 57³/₅″ 1′ 57²/₅″ 1′ 57³/₅″ 1′ 57²/₅″ 1′ 57¹/₅″ 1′ 56⁴/₅″ 1′ 57″ 1′ 57″

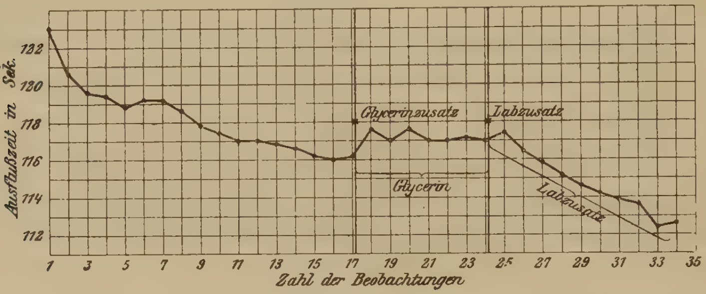
Differenz zwischen 2′ 3″ und 1′ 57″ = 4,8 %.

Nach 1 Tropfen Labzusatz. Beobachtung 60′ (Kurve 4).

1′ 56¹/₅″ 1′ 55″ 1′ 54²/₅″ 1′ 53⁴/₅″ 1′ 53″ 1′ 52³/₅ 1′ 52¹/₅″ 1′ 51⁴/₅″ 1′ 51³/₅″ 1′ 51″ 1′ 51¹/₅″ 1′ 51″ 1′ 50⁴/₅″ 1′ 50³/₅″ 1′ 50⁴/₅″

Hier beträgt die Abnahme der inneren Reibung in der Milch ohne Lab 4,8 % in 40′. Nach Labzusatz rund 5 % in 60′. Die Änderung der Ausfluſszeit ohne Lab erklärt sich teilweise dadurch, daſs Milch von Zimmertemperatur in den Viskosimeter gegeben wurde. Immerhin müssen auch ohne Lab Veränderungen in der Milch vor sich gehen, die eine Veränderung der Durchfluſszeit bedingen, da der Temperaturausgleich hier keine 40′ dauert.

Versuch 5.



Kurve 5.

Milch ohne Lab. Beobachtung 45′.

$2'\,3''$ $2'\,{}^3/_5''$ $1'\,59^3/_5''$ $1'\,59^2/_5''$ $1'\,48^4/_5''$ $1'\,59^1/_5''$ $1'\,59^1/_5''$ $1'\,58^3/_5''$ $1'\,57^4/_5''$
$1'\,57^2/_5''$ $1'\,57''$ $1'\,57''$ $1'\,56^4/_5''$ $1'\,56^3/_5''$ $1'\,56^1/_5''$ $1'\,56''$ $1'\,56^1/_5''$

Differenz zwischen $2'\,3''$ und $1'\,56^1/_5'' = 5{,}7\,\%$.

Bisher wurde der Einfluſs des Glyzerins des Labextrakts auf die Anderung der Ausfluſszeit nicht näher berücksichtigt. Um den Einfluſs kennen zu lernen, wurde zu der im Viskosimeter befindlichen Milch jetzt 1 Tropfen Glyzerin gegeben, das, wie das Glyzerin der Lablösung, einmal mit Wasser verdünnt wurde. Der Einfluſs auf die Durchfluſszeit war, wie aus der Tabelle und der Kurve 5 ersichtlich, gering.

Milch + 1 Tropfen verdünntes Glyzerin.

$1'\,57^3/_5''$ $1'\,57''$ $1'\,57^3/_5''$ $1'\,57''$ $1'\,57''$ $1'\,57^1/_5''$ $1'\,57''$

Jetzt wurde zu derselben Milch noch 1 Tropfen Lab gegeben. Es tritt noch eine unbedeutende Verringerung der Ausfluſszeit ein.

Nach 1 Tropfen Labzusatz (10 h 25′ — 11 h 10′).

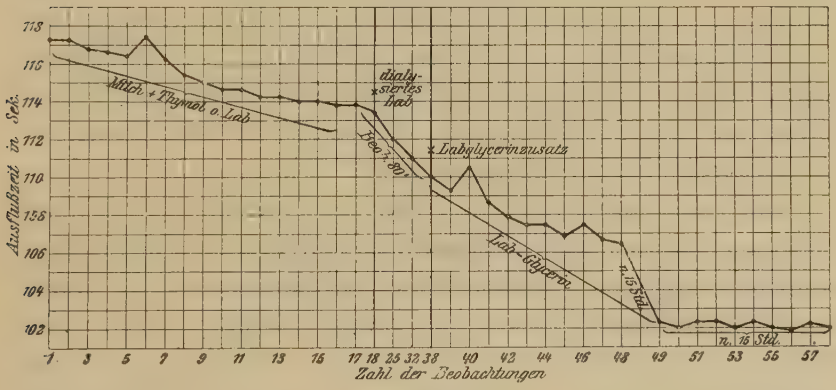
$1'\,57^2/_5''$ $1'\,56^2/_5''$ $1'\,55^4/_5''$ $1'\,55^1/_5''$ $1'\,54^3/_5''$ $1'\,54^1/_5''$ $1'\,53^4/_5''$ $1'\,53^3/_5''$
$1'\,52^2/_5''$ $1'\,52^3/_5''$

Differenz: 4 %.

Wir haben auch in diesem Versuche eine nur minimale Verringerung der Durchflufszeit nach Labzusatz. Nach kurzer Zeit bleibt sie dann schon ziemlich konstant.

Bisher war bei den Versuchen kein Antiseptikum angewandt. Um nun etwaige Fäulnisvorgänge oder Säuerung der Milch auszuschliefsen und um auch die Reibungsänderung bei längerer Einwirkung des Fermentes zu beobachten, wurde vor der Filtration Thymol der Milch zugesetzt, dann ein Lab zugegeben, das nach Laqueurs Angabe hergestellt war, sich jedoch nur wenig wirksam zeigte, wie aus der folgenden Tabelle und der Kurve 6 hervorgeht.

Versuch 6.



Kurve 6.

Milch + Thymol ohne Lab (45′ Beobachtung).

1′ $57^{1}/_{5}$″ 1′ $57^{1}/_{5}$″ 1′ $56^{4}/_{5}$″ 1′ $56^{3}/_{5}$″ 1′ $56^{2}/_{5}$″ 1′ $57^{3}/_{5}$″ 1′ $56^{1}/_{5}$″ 1′ $55^{2}/_{5}$″
1′ 55″ 1′ $54^{3}/_{5}$″ 1′ $54^{3}/_{5}$″ 1′ $54^{1}/_{5}$″ 1′ $54^{1}/_{5}$″ 1′ $54^{1}/_{5}$″ 1′ 54″ 1′ 54″ 1′ $53^{4}/_{5}$″
1′ $53^{4}/_{5}$″

Beobachtung 80′, Milch und Zugabe 1 Tropfen des dialysierten Labs.

1′ $53^{2}/_{5}$″ 1′ 53″ 1′ 53″ 1′ $52^{3}/_{5}$″ 1′ $52^{3}/_{5}$″ 1′ $52^{3}/_{5}$″ 1′ 53″ 1′ 52″ 1′ $51^{4}/_{5}$″
1′ $52^{1}/_{5}$″ 1′ $51^{3}/_{5}$″ 1′ $51^{3}/_{5}$″ 1′ $51^{4}/_{5}$″ 1′ $51^{4}/_{5}$″ 1′ 51″ 1′ $51^{2}/_{5}$″ 1′ 51″ 1′ 51″
1′ $51^{1}/_{5}$″ 1′ 51″

Zu dieser Probe wurde dann noch ein Tropfen Labpulverglyzerinextrakt gegeben und die Änderung der Viskosität weiter beobachtet.

Nach Labpulverglyzerinextraktzusatz.

$1'\,50''$ $1'\,49^{1}/_{5}''$ $1'\,50^{2}/_{5}''$ $1'\,48^{3}/_{5}''$ $1'\,47^{4}/_{5}''$ $1'\,47^{2}/_{5}''$ $1'\,47^{2}/_{5}''$ $1'\,46^{4}/_{5}''$ $1'\,47^{2}/_{5}''$
$1'\,46^{3}/_{5}''$ $1'\,46^{2}/_{5}''$

Viskosität nach 15 h (Beobachtung 45′).

$1'\,42^{1}/_{5}''$ $1'\,42''$ $1'\,42^{1}/_{5}''$ $1'\,42^{1}/_{5}''$ $1'\,42''$ $1'\,42^{1}/_{5}''$ $1'\,42''$ $1'\,41^{4}/_{5}''$ $1'\,42^{1}/_{5}''$
$1'\,42''$ $1'\,42''$ $1'\,42''$ $1'\,42''$

Die Ausflufszeiten blieben hier ganz konstant. Der Unterschied beträgt bei Milch ohne Lab . . . . = 3,4 %
» + dialys. Lab . . = 1,7 »
» + Labpulv.-Extr. . = 4,5 »
» nach 15 Stunden . = 8,0 »

Die Viskositätsänderung ist auch hier geringfügig, selbst nach 15 Stunden ist die Änderung nicht wesentlich. Zu berücksichtigen ist auch, dafs durch Labzusatz die Temperatur in den 2 ccm Milch im Viskosimeter etwas sinkt und sich erst allmählich wieder ausgleicht. Eine geringe Veränderung findet durch Labzusatz wohl statt, da sich die Ausflufszeit nach dem Zusatz sofort um einige Sekunden verringert.

Um nun über die Laqueurschen Versuche ein weiteres Urteil zu gewinnen, wurden die folgenden Versuche mit Kaseinlösungen angestellt. Abgesehen von einigen Ausnahmen waren die Kaseinlösungen 3prozentig. Dieser Gehalt genügt nach Hammarsten.[1]) Zu starke Verdünnung der Lösung soll die Gerinnung verhindern. Das Kasein wurde in n/10 NaOH gelöst. Als Indikator diente Phenolphthalein. Es wurde sorgfältig darauf geachtet, dafs keine alkalische Reaktion eintrat. Die Lösung ging oft sehr langsam vor sich, doch waren nach ½tägigem Stehen die Kaseinkörner verschwunden. Leichtes Erwärmen beschleunigte die Lösung.

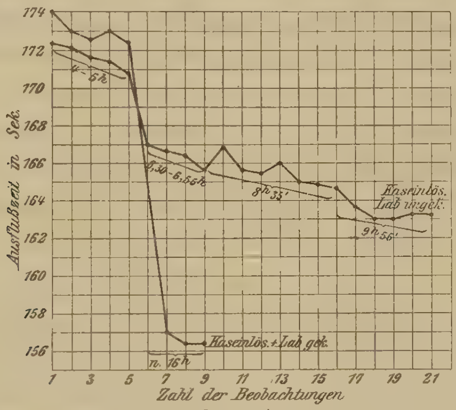
b) Versuche mit Kaseinlösungen.

Analog den ersten Versuchen mit Milch wurden zwei Versuche folgender Art angestellt. Je 20 ccm 4proz. Kaseinlösung wurden mit 10 Tropfen Labpulverextrakt gekocht und ungekocht versetzt und im Wasserbade 35 Minuten bei 38,5 ° C digeriert. Nachdem die Labwirkung auf das Kasein durch Kalkzusatz festgestellt war, wurde die Ausflufszeit dieser Probe in 5 während einer Stunde sich folgenden Beobachtungen bestimmt. Nach $1^{1}/_{2}$, $3^{1}/_{2}$ und

$4^1/_2$ Stunden wurden die Bestimmungen der Ausflufszeiten der Probe mit ungekochtem Lab in mehreren Beobachtungen wiederholt. Nach Reinigung des Viskosimeters geschah dasselbe mit der Probe, welche mit gekochtem Lab versetzt wurde. Nachdem fünf Bestimmungen gemacht waren, blieb diese Probe weitere 16 Stunden im Wasserbade.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt und in den Kurven 7 und 8 graphisch ausgeführt.

Versuch 7.



Kurve 7/8.

Kaseinlösung + Lab ungekocht.

4—5 h					6 h 30—6 h 55		
$2'\ 52^2/_5''$	$2'\ 52^1/_5''$	$2'\ 51^3/_5''$	$2'\ 51^2/_5''$	$2'\ 50^4/_5''$	$2'\ 47''$	$2'\ 46^3/_5''$	$2'\ 46^2/_5''$

8 h 35							
$2'\ 45^3/_5''$	$2'\ 46^4/_5''$	$2'\ 45^3/_5''$	$2'\ 45^2/_5''$	$2'\ 46''$	$2'\ 45''$	$2'\ 44^4/_5''$	$2'\ 44^3/_5''$

9 h 55				
$2'\ 43^3/_5''$	$2'\ 43''$	$2'\ 43''$	$2'\ 43^1/_5''$	$2'\ 43^1/_5''$

Versuch 8.

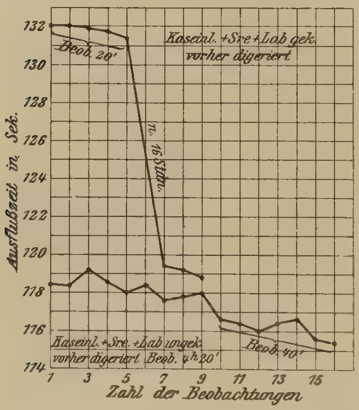
Kaseinlösung + Lab gekocht.

Beobachtung 20′					Nach 16 Stunden		
$2'\ 54''$	$2'\ 53^3/_5''$	$2'\ 52^3/_5''$	$2'\ 53''$	$2'\ 52^2/_5''$	$2'\ 37''$	$2'\ 36^2/_5''$	$2'\ 36^2/_5''$

Ein merklicher Unterschied in der Ausflufszeit der gelabten und der nichtgelabten Kaseinlösung läfst sich hier anfänglich nicht erkennen. Erst nach mehrstündigem Stehen im Wasserbade nimmt die Viskosität der Probe mit ungekochtem Lab

ersichtlich ab. Das ist aber bei der Probe mit gekochtem Lab nach 16 Stunden auch der Fall, so dafs eine Viskositätsänderung durch Labwirkung aus diesen Versuchen nicht mit Sicherheit abzuleiten ist.

Es erschien nun denkbar, dafs der Alkalizusatz beim Auflösen des Kaseins die Labwirkung besonders ihre Beziehung zur Viskositätsänderung in irgendeiner Weise zu ändern imstande ist. Ich habe daher versucht, durch Zusatz von sehr verdünnter Essigsäure die vermutete Wirkung des Alkalis aufzuheben. Es wurden zu diesem Zwecke die mit Säure versetzten Kaseinlösungen wiederum 35 Minuten bei 38,5^0 mit je 10 Tropfen gekochtem und ungekochtem Lab digeriert und dann im Verlaufe längerer Zeit mit beiden Proben Viskositätsbestimmungen ausgeführt. Die Zahlen sind nachstehend zusammengestellt und ihre Werte in den Kurven 9 und 10 aufgetragen.



Kurve 9/10.

Versuch 9.

Kaseinlösung + Säure + Lab ungekocht.

4 h—5 h alle 5 Min. 1 Ablesung

1′ $58\frac{2}{5}$″ 1′ $58\frac{2}{5}$″ 1′ $59\frac{1}{5}$″ 1′ $58\frac{3}{5}$″
1′ 58″ 1′ $58\frac{2}{5}$″

6 h 30—6 h 55

1′ $57\frac{3}{5}$″ 1′ $57\frac{4}{5}$″ 1′ 58″

7 h 20

1′ $56\frac{3}{5}$″ 1′ $56\frac{2}{5}$″ 1′ 56″ 1′ $56\frac{2}{5}$″

8 h

1′ $55\frac{3}{5}$″ 1′ $55\frac{3}{5}$″ 1′ $55\frac{2}{5}$″

Versuch 10.

Kaseinlösung + Säure + Lab gekocht.

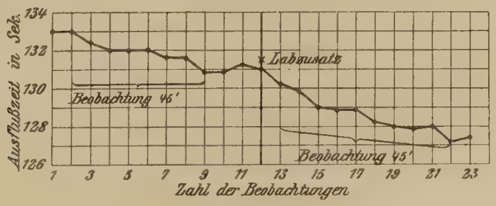
Beobachtung 20′	Nach 16 Stunden
2′ $12\frac{1}{5}$″ 2′ $12\frac{1}{5}$″ 2′ 12″ 2′ $11\frac{4}{5}$″ 2′ $11\frac{2}{5}$″	1′ $59\frac{2}{5}$″ 1′ $59\frac{1}{5}$″ 1′ $58\frac{4}{5}$″

Bei diesen Versuchen ist eine Abnahme der inneren Reibung der gelabten Kaseinlösung zweifellos vorhanden, beträgt doch die Differenz der Ausflufszeiten beider Proben 14″ oder rund 10 %. Nach 16 Stunden zeigt allerdings die Probe mit gekochtem

Lab ebenfalls eine beträchtliche Abnahme der Ausflufszeit, doch mufs offenbar diese Änderung in der Viskosität eine ganz andere Ursache haben. Das Kasein ist ja in seinen Lösungen eigentlich nur in einem Zustande starker Quellung. Wir sehen, dafs es längere Zeit braucht, bis die Kaseinlösung eine einigermafsen homogene Beschaffenheit annimmt. Es ist nun denkbar, dafs bei weiterem Digerieren im Wasserbade diese Homogenität noch zunimmt, was dann zur Folge haben kann, dafs die innere Reibung in der beobachteten Weise abnimmt. Vielleicht kommt aber auch eine bakterielle Zersetzung des Kaseins in Frage, weshalb die weiteren Versuche immer unter Thymolzusatz angestellt wurden. Ob die gefundene Viskositätsabnahme im Sinne Laqueurs zu deuten ist, kann erst später entschieden werden. Bemerkt sei nur schon hier, dafs selbst kurze Zeit nach Zusatz des ungekochten Labs stark positive Tryptophanreaktion erhalten wurde, was darauf hindeutet, dafs neben dem Lab noch ein proteolytisches Ferment wirksam ist.

Die folgenden Versuche sind nun in der Weise angestellt worden, dafs die Kaseinlösung erst im Viskosimeter, nachdem sie eine annähernd konstante Ausflufsgeschwindigkeit zeigte, mit dem Lab versetzt wurde. Auch hier wurde der Einflufs des mit dem Lab erfolgenden Glyzerinzusatzes geprüft und ebenso der Einflufs des längeren Digerierens auf die Viskosität der nicht mit Lab versetzten Kaseinlösung. Eine Reihe solcher Versuche wird in den nachstehenden Tabellen aufgeführt und in den Kurven graphisch dargestellt.

Versuch 11.



Kurve 11.

Viskosität ohne Lab. Beobachtung 45′.

2′ 13″ 2′ 13″ 2′ $12\frac{2}{5}$″ 2′ 12″ 2′ 12″ 2′ 12″ 2′ $11\frac{3}{5}$″ 2′ $11\frac{3}{5}$″ 2′ $10\frac{4}{5}$″ 2′ $10\frac{4}{5}$″ 2′ $11\frac{1}{5}$″ 2′ 11″

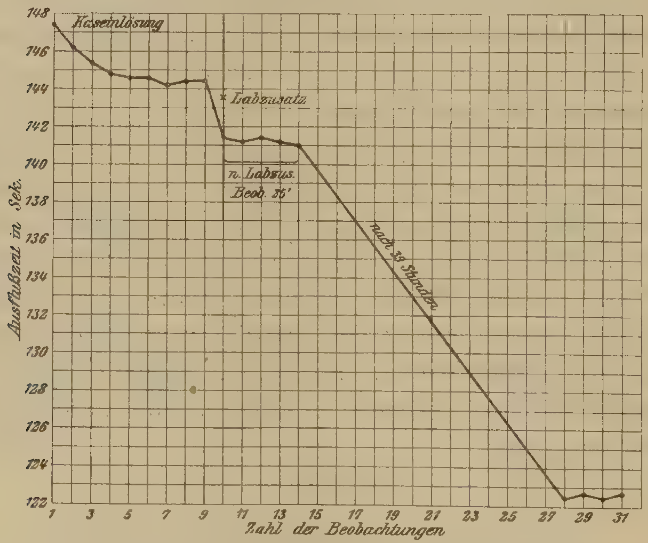
Nach 1 Tropfen Labzusatz. Beobachtung 45'.

2' 10 1/5" 2' 9 4/5" 2' 9" 2' 8 4/5" 2' 8 4/5" 2' 8 1/5" 2' 8" 2' 7 4/5" 2' 8" 2' 7 1/5" 2' 7 2/5"

Obgleich das Lab nur kurze Zeit eingewirkt hatte, war die Tryptophanreaktion positiv. Diese Erscheinung ist um so auffallender, als die Salzsäurebindung fast gar keine Zunahme erfährt. Um eine proteolytische Wirkung mufs es sich jedenfalls handeln. Dafs auch bei den Versuchen Laqueurs die Verdauung mitwirkte, ist sehr wahrscheinlich, zumal da die Digestion 30 Minuten dauerte, bevor er die Proben in das Viskosimeter brachte.

In den nachstehenden Tabellen sind weitere Versuche angeführt und in den Kurven aufgezeichnet.

Versuch 12.



Kurve 12.

Kasein ohne Lab. Beobachtung 70'.

2' 27 2/5" 2' 26 1/5" 2' 25 2/5" 2' 24 4/5" 2' 24 3/5" 2' 24 3/5" 2' 24 1/5" 2' 24 2/5" 2' 24 2/5"

Differenz rund 2 %.

Nach 2 Tropfen Labzusatz.

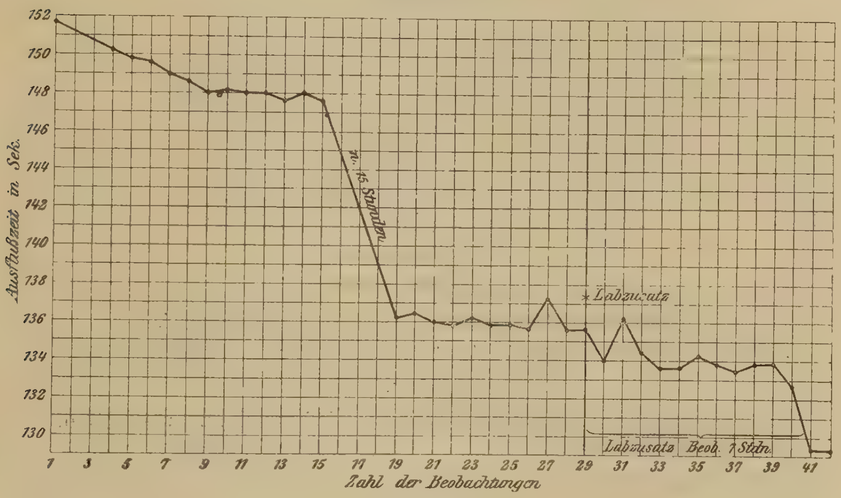
Beobachtung 25'	Nach 39 Stunden
2' 21 2/5" 2' 21 1/5" 2' 21 2/5" 2' 21 1/5" 2' 21"	2' 2 3/5" 2' 2 2/5" 2' 2 3/5" 2' 2 3/5"

Kasein ohne Trübung. Differenz 15 % nach 39 Std.

Nach 39 Stunden ist der Reibungsunterschied noch nicht beträchtlich. Bakterielle Vorgänge waren in der Kaseinlösung durch Thymolzusatz ausgeschlossen.

Bei längerem Stehen im Viskosimeter ändert sich auch eine Kaseinlösung ohne Labzusatz so, daſs der durch Lab bedingte Reibungsunterschied wenig hervortritt, wie die folgenden Tabellen und Kurven zeigen.

Versuch 13.



Kurve 13.

3 proz. Kaseinlösung ohne Lab. 5—6 h p. m. (30. I.)

2′ 32$^1/_5$″ 2′ 31$^3/_5$″ 2′ 30$^2/_5$″ 2′ 30$^1/_5$″ 2′ 29$^4/_5$″ 2′ 29$^3/_5$″ 2′ 29″ 2′ 28$^3/_5$″ 2′ 28″
2′ 28$^1/_5$″ 2′ 28″ 2′ 28″ 2′ 27$^3/_5$″ 2′ 28″ 2′ 27$^3/_5$″

Beobachtung am 31. I. 9—10 h a. m.

2′ 16$^1/_5$″ 2′ 16$^2/_5$″ 2′ 16″ 2′ 15$^4/_5$″ 2′ 16$^1/_5$″ 2′ 15$^4/_5$″ 2′ 15$^4/_5$″ 2′ 15$^3/_5$″
2′ 17$^1/_5$″ 2′ 15$^3/_5$″ 2′ 15$^3/_5$″

Differenz nach 17 Stunden: 11 %.

Nach Labzusatz.

Beobachtung von 10 h — 10 h 30.

2′ 14″ 2′ 16$^1/_5$″ 2′ 14$^2/_5$″ 2′ 13$^3/_5$″ 2′ 13$^3/_5$″ 2′ 14$^1/_5$″ 2′ 13$^4/_5$″ 2′ 13$^2/_5$″
2′ 13$^4/_5$″ 2′ 13$^4/_5$″

4 h — 5 h p. m.

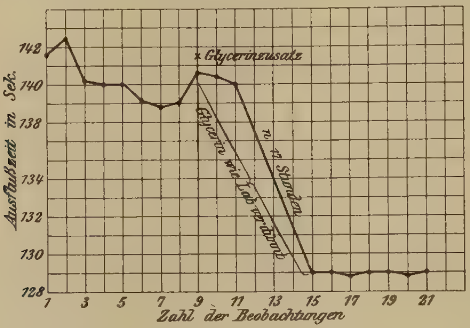
2′ 12$^3/_5$″ 2′ 10$^1/_5$″ 2′ 10″ 2′ 10″

Differenz: 3 %.

Die Probe wurde aus dem Viskosimeter genommen und damit die Tryptophanreaktion angestellt, die positiv ausfiel.

Um die Änderung der Ausflußzeiten ohne Labzusatz zu beobachten, wurde ein Kontrollversuch gemacht, dessen Ergebnis in der folgenden Tabelle enthalten ist.

Versuch 14.



Kurve 14.

3 proz. Kaseinlösung ohne Lab. Beobachtung 45′.

2′ 21$^3/_5$″ 2′ 22$^2/_5$″ 2′ 20$^1/_5$″ 2′ 20″ 2′ 20″ 2′ 19$^1/_5$″ 2′ 18$^4/_5$″ 2′ 19″

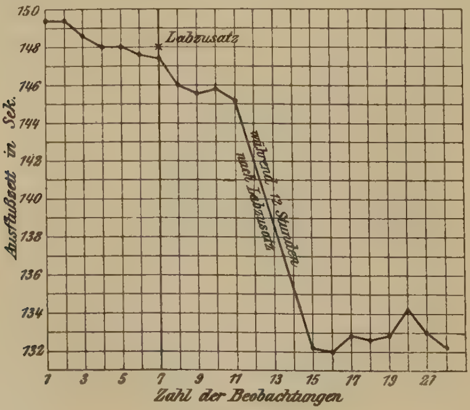
Differenz: 2 %.

2 Tropfen Glyzerin, in gleicher Weise wie Lab verdünnt, zugegeben.

Beobachtung 25′	Nach 17 Stunden
2′ 20$^3/_5$″ 2′ 20$^2/_5$″ 2′ 20″	2′ 9″ 2′ 9″ 2′ 8$^4/_5$″ 2′ 9″ 2′ 9″ 2′ 8$^4/_5$″ 2′ 9″

Differenz: 8 %.

Versuch 15.



Kurve 15.

3 proz. Kaseinlösung ohne Lab. Beobachtung 45′.

2′ 29²/₅″ 2′ 29²/₅″ 2′ 28³/₅″ 2′ 28″ 2′ 28″ 2′ 27³/₅″ 2′ 27³/₅″

Differenz: 1,3 %.

Nach 1 Tropfen Labzusatz.

Beobachtung 25′

2′ 26″ 2′ 25³/₅″ 2′ 25⁴/₅″ 2′ 25¹/₅″

Nach 17 Stunden

2′ 12¹/₅″ 2′ 12″ 2′ 12⁴/₅″ 2′ 12³/₅″ 2′ 12⁴/₅″ 2′ 14¹/₅″ 2′ 13″ 2′ 12¹/₅″

Auch hier ist der Unterschied zwischen der Kasein- und Parakaseinlösung hinsichtlich der Differenz der Durchflufszeiten sehr gering. Nach 17 Stunden trat auf Zusatz von $CaCl_2$ keine nennenswerte Fällung mehr ein. Auch Petry[1]), der Kaseinlösungen nach Labeinwirkung auf ihre Fällung durch $CaCl_2$ untersuchte, erwähnt, dafs nach längerer Digestion die Fällbarkeit verschwindet.

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, dafs der Labzusatz zur Kaseinlösung eine wesentliche Anderung der Viskosität der Kaseinlösung nicht bewirkt hat, jedenfalls nie auch nur im entferntesten in dem Grade wie das Laqueur beobachten konnte.

Nach längerer Zeit finden wir zwar eine deutliche Abnahme der Ausflufszeit. Diese findet sich aber auch teilweise bei den Proben ohne Labzusatz. Da aber auch schon nach kurzer Einwirkung des Labextraktes Tryptophanreaktion zu konstatieren war, erscheint es nicht nur möglich, sondern sogar wahrscheinlich, dafs die Abnahme der Viskosität in der Hauptsache durch tryptische Verdauung bedingt ist.

Nach Schmidt-Nielsen[2]) soll neben dem Parakasein und Molkeneiweifs bildenden Enzym in der Kalbsmagenschleimhaut wie auch in den Extrakten eine Protease vorhanden sein, die das Parakasein angreift. Slowtzoff[3]) kommt auf Grund seiner Versuche ebenfalls zur Annahme einer proteolytischen Wirkung des Labs.

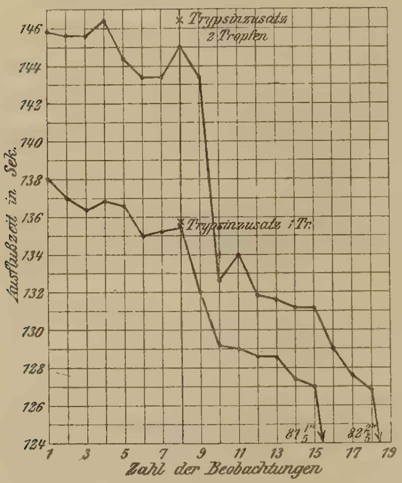
---

1) Petry, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 8 S. 339.

2) Schmidt-Nielsen, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 9 S. 322.

3) Slowtzoff, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 9.

Welchen Einflufs nun die tryptische Verdauung auf die innere Reibung hat, läfst sich aus den folgenden Zahlen und Kurven ersehen. Die Versuche wurden mit einem äufserst wirksamen Pankreaspreſssaft angestellt. Die Kaseinlösung war frisch bereitet. Zuerst wurden auch hier die Ausflufszeiten so lange beobachtet, bis eine ziemliche Konstanz erreicht war und dann Trypsin zugegeben.



Kurve 16/17.

Versuch 16.

Kaseinlösung ohne Trypsin.

Beobachtung 1 Std. 10 Min. Alle 5 Min. eine Ablesung.

2' 25$^{4}/_{5}$" 2' 25$^{5}/_{5}$" 2' 25$^{3}/_{5}$" 2' 26$^{2}/_{5}$"
2' 24$^{3}/_{5}$" 2' 23$^{2}/_{5}$" 2' 23$^{2}/_{5}$" 2' 25"
2' 23$^{2}/_{5}$"

Differenz: 1,3 $^{0}/_{0}$ nach 1 Std. 10 Min.

Zusatz von 2 Tropfen Trypsin.
Beobachtung 1 Std.

2' 12$^{3}/_{5}$" 2' 14" 2' 11$^{4}/_{5}$" 2' 11$^{3}/_{5}$"
2' 11$^{1}/_{5}$" 2' 11$^{1}/_{5}$" 2' 9" 2' 7$^{3}/_{5}$" 2' 6$^{4}/_{5}$"

Differenz: 4,5 $^{0}/_{0}$ nach 1 Std.

8 h 50 — 9 h 35 am folgenden Tage.
1' 23" 1' 22$^{4}/_{5}$" 1' 22$^{4}/_{5}$" 1' 23" 1' 22$^{3}/_{5}$"
1' 22$^{2}/_{5}$"

Versuch 17.

Kaseinlösung ohne Trypsin.

Beobachtung 1 Std. 10 Min. (5 h 10 — 6 h 20 p. m.)
2' 18" 2' 17" 2' 16$^{2}/_{5}$" 2' 16$^{4}/_{5}$" 2' 16$^{3}/_{5}$" 2' 15" 2' 15$^{1}/_{5}$" 2' 15$^{2}/_{5}$"
Differenz: 2 $^{0}/_{0}$ nach 1 Std. 10 Min.

Zusatz von 1 Tropfen Trypsin.
Beobachtung von 6 h 30 — 7 h 30 h p. m.
2' 12" 2' 9$^{1}/_{5}$" 2' 9" 2' 9" 2' 8$^{3}/_{5}$" 2' 8$^{3}/_{5}$ 2' 7$^{2}/_{5}$" 2' 7"
Differenz: 6 $^{0}/_{0}$ nach 1 Std. 10 Min.

8 h 50 — 9 h 35 a. m. folgender Tag
1' 22$^{1}/_{5}$" 1' 22$^{2}/_{5}$" 1' 21$^{2}/_{5}$" 1' 21$^{3}/_{5}$" 1' 21" 1' 21$^{2}/_{5}$"
Differenz: 40 $^{0}/_{0}$ nach 15 Std.

Die beiden Beobachtungen wurden zu gleicher Zeit nebeneinander gemacht, indem 2 Viskosimeter im Wasserbade angebracht waren.

Wir haben hier eine auffallend rasche Abnahme der Ausflufszeiten nach Zugabe des Trypsins. Wie rasch sich die Durchflufszeit verringert, ist sehr schön aus den Kurven ersichtlich. In dem einen Falle sinkt die Ausfiufszeit in 2 Minuten von $2'23^2/_5''$ auf $2'12^3/_5''$ und in dem anderen von $2'15^2/_5''$ auf $2'9^1/_5''$. Diese rasche Änderung kann nur durch die Lösung des Kaseins erklärt werden.

Die Kaseinlösung wurde nach Trypsinzusatz innerhalb kurzer Zeit milchig trübe. Die Trübung verschwand jedoch nach einigen Stunden wieder. Bei diesen Versuchen fiel natürlich innerhalb sehr kurzer Zeit die Tryptophanreaktion positiv aus.

Schlufs.

Die Reibungsunterschiede zwischen Kasein- und Parakaseinlösungen sind, wie aus den vielen Versuchen zur Genüge hervorgeht, nicht bedeutend. Bei den Versuchen mit Milch sind die Differenzen so gering, dafs sie innerhalb der Fehlergrenzen fallen. Wirkliche Unterschiede erhalten wir nur bei längerer Dauer der Versuche. Nach diesen Befunden, bei Berücksichtigung ferner, dafs nach relativ kurzer Zeit in der neutralen Kaseinlösung die Tryptophanreaktion erscheint, können die Befunde von Laqueur noch nicht als ein Beweis für eine Spaltung des Kaseins in Parakasein und Molkeneiweifs angesehen werden. Für die Abnahme der inneren Reibung kann auch eine verdauende Wirkung verantwortlich gemacht werden. Zugunsten einer verdauenden Wirkung spricht auch, dafs, nachdem die Labwirkung stattgefunden hat, die Ausflufszeiten doch noch fortwährend abnehmen.

Mit dieser Ansicht stehen die Befunde von Petry und Spiro (a. a. O.) in Einklang. Sie fanden, dafs nach der Parakaseinbildung die Molkeneiweifsbildung nicht stillsteht, sondern weiter fortschreitet. Auch Stowtzoff (a. a. O.) nimmt nach seinen Untersuchungen neben der koagulierenden eine proteolytische Wirkung an.

Herrn Prof. Dr. Gürber sei zum Schlusse für die Anregung zu dieser Arbeit und die freundliche Unterstützung mein herzlichster Dank ausgesprochen.

Auch danke ich Herrn Prof. v. Frey für die freundliche Durchsicht der Arbeit und die Übernahme des Referates.

Lebenslauf.

Ich, Gerhard Wernken aus Ermke in Oldenburg (Grofsh.), bin geboren am 19. April 1879 als Sohn des Hofbesitzers Heinrich Wernken in Ermke. Nach Besuch der Volksschule und Vorbildung durch Privatunterricht besuchte ich von Obertertia an das Gymnasium zu Vechta in Oldenburg, das ich im Juli 1900 mit dem Reifezeugnis verliefs.

Dann studierte ich 3 Semester Philosophie und Naturwissenschaften an der Akademie zu Münster i. Westf., wandte mich im S.-S. 1902 dem Studium der Medizin zu und besuchte die Universität Würzburg, wo ich im Februar des W.-S. 1903/04 die ärztliche Vorprüfung ablegte. 2 Semester besuchte ich dann die Universität München, kehrte im S.-S. 1905 nach Würzburg zurück, wo ich mich der ärztlichen Staatsprüfung im Oktober 1906 unterzog und dieselbe im Januar 1907 beendete. Nach Ablegung der Staatsprüfung war ich als Medizinalpraktikant im physiolog. Institute, in der chirurg. Poliklinik und am städt. Luisenhospital in Dortmund tätig. Vorstehende Dissertation verfafste ich im physiologischen Institute unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Gürber.